

CZESŁAW KASZUBKIEWICZ, ALINA KUCHARWICZ-KRUKOWSKA, ZBIGNIEW MICHALSKI,
MIECZYSLAW BOCIANOWSKI, ZENON SOŁTYSIAK, IRENA DURLAK

Próba zastosowania bakteriofagów w leczeniu kolibakteriozy prosiąt

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. Czerska 12, 53-114 Wrocław

Istotnym problemem w leczeniu zwierząt są zakażenia bakteriami opornymi na antybiotyki i sulfonamidy. Do najczęściej występujących w hodowlach wielkostatnych należą kolibakteriozy prosiąt. Pozytywne wyniki leczenia bakteriofagami schorzeń przewodu pokarmowego u ludzi wywołanych opornymi na antybiotyki i sulfonamidy szczepami z rodzaju *Shigella flexneri* (4, 6, 7), *Shigella sonnei* (6, 8), *Salmonella enteritidis* (1, 5), a także u zwierząt *Escherichia coli* (2, 9, 10), skłoniły nas do podjęcia leczenia kolibakteriozy prosiąt przy pomocy swoście działającego bakteriofaga.

Materiał i metody

Badaniem objęto 2413 prosiąt rasy wielkiej białej polskiej, w wieku 6—21 dni, chorych na kolibakteriozę, pochodzących z Fermi Tuczku Przemysłowego Trzody Chlewnej. Prosięta podzielono na 2 grupy po około 1200 szt. w każdej. Prosięta grupy pierwszej leczono bakteriofagiem, grupa druga — kontrolna była leczona antybiotykami, sulfonamidami i witaminami wg przyjętych dawek dla tych zwierząt.

Z narządów wewnętrznych i treści jelit cienkich prosiąt, u których sekcyjnie i bakteriologicznie rozpoznano kolibakteriozę, wyizolowano beta hemolityczne szczepy *E. coli* należące do serotypu O149:K91, K88acH10. Losowo wybrano osiem wyizolowanych szczepów w celu określenia wrażliwości na bakteriofagi z grupy *E. coli* (tab. 1).

Tab. 1. Zestawienie doświadczalnych szczepów *E. coli* i ich wrażliwość na faga O25

Nr szczepu	Serotyp <i>E. coli</i>	Bakteriofag O25
419	b. hem. O149:K91, K88acH10	+
391	„	+
392	„	+
390	„	+
389	„	+
388	„	+
396	„	+
418	<i>E. coli non haemoliticus</i>	—

Objaśnienia: + liza, — brak lizy.

Bakteriofaga przeznaczonego do leczenia namnażano w następujący sposób: 24-godzinna hodowla testowego szczepu *E. coli* odmładzano w ciągu 3 godzin w temp. 37°C, a następnie do 100 ml zwykłego bulionu dodawano 3 ml hodowli i 6 ml lizatu bakteriofaga O25. Po 3 godzinach inkubacji w termostacie do lizatu dodawano 1 ml chloroformu i umieszczano go w lodówce w temp. 4°C do następnego dnia. Następnie miareczkowano fagowy lizat w celu określenia jego miana, przy równoczesnej kontroli jego sterylności. Tak otrzymany lizat fagowy określony bakteriofagiem O25 *E. coli* o mianie 10⁵ podawano chorym prosiętom *per os*, dwukrotnie po 2 ml w odstępie 24 godzin.

U wszystkich zwierząt obserwowano objawy kliniczne, u padłych wykonywano sekcje, a u części z nich kontrolne badania bakteriologiczne narządów wewnętrznych. U wybranych losowo prosiąt w grupie doświadczalnej i kontrolnej wykonywano przed leczeniem wymazy odbytu dla ustalenia chorobotwórczej flory bakteryjnej. Podobne badania wykonywano w 10—14 dni po leczeniu. Ponadto u części zwierząt doświadczalnych sprawdzono po leczeniu wrażliwość na bakteriofaga O25 wyizolowanych z kału szczepów *E. coli* (tab. 1). Ustalono także procentową ilość wyleczeń, obliczono jego koszty i porównano dane w obu badanych grupach. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, istotność różnic oznaczono tekstem χ^2 .

Wyniki i omówienie

Kolibakterioza świń jest jednostką chorobową, która w ostatnich latach przynosi hodowcom tych zwierząt znaczne straty ekonomiczne, a służbie weterynaryjnej sprawia wiele trudności profilaktycznych i leczniczych. Objawy kliniczne i zmiany sekcyjne są wprawdzie dość typowe i pozwalają w miarę wczesnie ustalić rozpoznanie, ale brak, jest nadal skutecznych metod zapobiegawczych i leczniczych. Przyczyną tego jest udział w etiologii kolibakteriozy rozpowszechnionej w środowisku pałeczki okrężnicy, której liczne szczepy ulegają uzjadliwieniu i stają się chorobotwórcze. Znane jest także dość częste zjawisko nabywania oporności pałeczek okrężnicy na antybiotyki i sulfonamidy (3). Poszukiwanie więc nowych i skutecznych sposobów leczenia, a do tego jeszcze tanich jest wciąż aktualne.

Próba leczenia kolibakteriozy prosiąt bakteriofagami okazała się bardzo korzystna. Na 1213 chorych zwierząt leczonych bakteriofagiem O25 padły 53 szt. (4,4%). Natomiast na 1200 chorych prosiąt leczonych chemioterapeutykami padło 116 szt. (9,6%), a więc o 63 prosięta więcej (tab. 2).

Tab. 2. Ilość prosiąt wyleczonych i padłych w grupie doświadczalnej i kontrolnej

Metoda leczenia	Liczba prosiąt w grupie	Odsetek prosiąt wyleczonych	Odsetek prosiąt padłych
Prosięta leczone bakteriofagiem O25	1213	95,6	4,4
Prosięta leczone chemioterapeutykami	1200	90,4	9,6

Kontrolne badania bakteriologiczne wymazów z kału wykonane u 187 prosiąt wyleczonych bakteriofagami wykazały tylko obecność niehemolitycznych szczepów *E. coli* oraz innych drobnoustrojów, nie należących do pałeczek okrężnicy. Pozwala to domniemywać istnienie pełnej wrażliwości chorobotwórczego serotypu O149 na bakteriofaga O25. Sprawdzono także 35 losowo wybranych niehemolitycznych szczepów *E. coli* w celu określenia wrażliwości na bakteriofaga O25. Okazało się, że we wszystkich przypadkach brak było wrażliwości na badanego bakteriofaga. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników badań wykazała istotne różnice w efekcie leczenia obu metodami. Wyniki testu przemawiają wysoce na korzyść terapii bakteriofagowej, gdzie $x^2=25,2$ przy $p<0,0001$. Biorąc pod uwagę koszt leczenia 1200 prosiąt antybiotykami i sulfonamidami (18 850 zł), trzeba uwzględnić także wartość świń, które padły w większej ilości w grupie kontrolnej, tj. o 63 szt. Wartość inwentarzowa prosięcia zarodowego w tuczu przemysłowym wynosiła 900 zł, co daje sumę 56 700 zł. W sumie koszt terapii chemioterapeutykami oraz wartość padłych prosiąt daje kwotę 75 550 zł.

Zachęcające wyniki leczenia kolibakteriozy prosiąt bakteriofagiem sugerują celowość dalszych badań nad jego praktycznym zastosowaniem, zwłaszcza w fermach o zamkniętym cyklu produkcyjnym. Należy jednak pamiętać, że warunkiem uzyskania pozytywnych wyników leczenia jest wstępne określenie wrażliwości szczepów *E. coli*, występujących w danym środowisku i dobór właściwego bakteriofaga lub sporządzenie odpowiedniej mieszanki fagowej. Biorąc pod uwagę dużą zmienność pałeczek okrężnicy, stosowanie bakteriofaga w masowej terapii wymaga jednak okresowej kontroli bakteriologicznej choroby zwierząt, połączonej ze sprawdzaniem wrażliwości izolowanych bakterii.

Wnioski

1. W opisanych warunkach bakteriofagi dały lepsze wyniki w leczeniu kolibakteriozy niż antybiotyki.

2. Za ewentualnym wprowadzeniem do leczenia kolibakteriozy prosiąt bakteriofagów przemawiają także: łatwy i tani sposób otrzymywania lizatu fagowego, prosta technika podawania bakteriofaga zwierzętom oraz krótki okres leczenia. Przed leczeniem, konieczne jest jednak określenie wrażliwości szczepu i dobór odpowiedniego bakteriofaga.

Piśmiennictwo

1. Galis-Malejczyk A., *Zwierzęta Cz.*: Med. dośw. 2, 257, 1950.
2. Janowski H.: *Choroby świń*, PWRiL, 1974.
3. Katamaga I.: *Nowości Wet.* 10, 178, 1980.
4. Kostrzewski J., Muleczyk M., Słopek S.: *Prz. epid.* 28, 483, 1974.
5. Kucharewicz-Krukowska A.: Praca nie opublikowana.
6. Lipska I.: *Pediatrya polska* 26, 449, 1951.
7. Muleczyk M., Słopek S., Marcinkowska H.: *Epidem. Rev.* 21, 97, 1967.
8. Muleczyk M., Słopek S.: *Epidem. Rev.* 25, 402, 1971.
9. Oyrzanowska J., Dziąbka K.: *Medycyna Wet.* 21, 288, 1965.
10. Słopek S., Kucharewicz-Krukowska A., Kotz J., Michalski Z., Soltysiak Z.: *Medycyna Wet.* 34, 672, 1978.

Adres autora: doc. dr hab. Zbigniew Michalski, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Кашубкевич Ч., Кухаревич-Крукowska А., Михальский З., Боцяновский М., Солтысяк З., Дурляк И. — **Попытка применения бактериофагов в лечении колибактериоза поросят.**

Сравнили 2 способа лечения поросят, больных колибактериозом — при помощи бактериофага и антибиотиками. В описанных условиях более полезным оказалось лечение специфическим бактериофагом O25. Оно было дешевле, менее трудоемко и дало на 5,2% меньше смертельных исходов.

Kaszubkiewicz C., Kucharewicz-Krukowska A., Michalski Z., Bocianowski M., Soltysiak Z., Durlak I. — **The use of bacteriophages in the treatment of colibacteriosis in young pigs.**

Two methods of treatment of diseased young pigs i.e. by means of bacteriophages and antibiotics were compared. Under conditions determined the treatment with a bacteriophage O25 appeared to be more profitable. It was cheaper, less time-consuming and death rate was lower at 5.2 per cent.

STUART B. F., BEDELL D. M., LINDSAY D. S.: **Kokcydioza u świń: wpływ środków odkażających na sporulację in vitro oocyst Isospora suis. (Coccidiosis in swine: effect of disinfectants on in vitro sporulation of Isospora suis oocysts).** *Vet. Med. small anim. Clin.* 76, 1185-1186, 1981 (8).

Ostatnio u prosiąt coraz częściej diagnozuje się zarażenia wywołane przez *Isospora suis*. W celu ograniczenia natężenia zarażeń przebadano wpływ powszechnie stosowanych środków odkażających na sporulację oocyst tego pasożyta. Najlepsze efekty in vitro uzyskano stosując wodę amoniakalną w stężeniu 100 i 50% oraz lizol. Chlorox (podchloryn sodowy) w stężeniu 100% powodował liżę wszystkich oocyst *I. suis*, a w stężeniu 50% jedynie niewielki odsetek oocyst sporulował. Natomiast te środki odkażające zastosowane w stężeniach zalecanych przez producentów nie hamowały sporulacji i nie wywoływały zmian morfologicznych w oocystach *I. suis*.

G.

SMELTZER T., RAMSAY R.: **Salmonele w mięsie odkostnionym mechanicznie. (Salmonella in mechanically deboned meat).** *Aust. vet. J.*, 57, 433-434, 1981 (9).

Mięso mechanicznie odkostnione cieląt, świń i owiec cechuje się pH zbliżonym do obojętnego oraz dużą wilgotnością. Stanowi ono więc bardzo dobre podłoże do namnażania drobnoustrojów, w tym z rodzaju *Salmonella*. Badania przeprowadzone z 55 próbkami wykazały obecność salmoneli w 40 próbkach (4 próbki zamrożone, 36 próbek świeżych). Ilość tych drobnoustrojów waha się od 0,3 do 550/100 g próbki. Wyizolowane szczepy należały do 24 serotypów, przy czym w jednej próbce występowało 5 różnych serotypów salmoneli. Z chwilą wykazania obecności salmoneli w próbkach tkanki mięśniowej przebadano również bakteriologicznie tkankę kostną. Z 24 na 31 próbek kości wyizolowano salmonele w ilościach zbliżonych do stwierdzonych w odkostnionym mechanicznie mięsie. Źródłem zanieczyszczenia tkanki mięsnej drobnoustrojami z rodzaju *Salmonella* przy mechanicznym odkostnieniu jest zanieczyszczona tymi drobnoustrojami tkanka kostna.

G.